

Aus der Kinderklinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. A. Windorfer

VERHALTEN DER
LYMPHOZYTENSUBPOPULATIONEN
IM KRANKHEITSVERLAUF DER
LYMPHOGRANULOMATOSE

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnmedizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Reinhard Barth
aus Neutraubling

1976

1977 № 39



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Kinderklinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. A. Windorfer

VERHALTEN DER LYMPHOZYTENSUBPOPULATIONEN IM KRANKHEITSVERLAUF DER LYMPHOGRANULOMATOSE



Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnmedizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Reinhard Barth
aus Neutraubling



Dekan: Professor Dr. E. Rügheimer
Referent: Priv. Doz. Dr. H.-U. Schwenk
Koreferent: Professor Dr. A. Windorfer
Tag der mündlichen Prüfung: 22. Dez. 1976

DAS VERHALTEN
DER LYMPHOZYTENSUBPOPULATIONEN
IM KRA NKHEITSVERLAUF
DER LYMPHOGRANULOMATOSE

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	2
2. Die humane Lymphozytensubpopulation	3
2.1. Einleitung	3
2.2. Genese	4
2.2.1. Hämatopoetische Stammzelle	4
2.2.2. T-Lymphozyten	5
2.2.3. B-Lymphozyten	5
2.2.4. "null"-Zellen	6
2.3. Funktion des B-T-Zellsystems	7
2.3.1. zelluläre Immunität	7
2.3.2. humorale Immunität	8
3. Nachweis der Subpopulationen	9
3.1. Membranimmunglobuline	9
3.2. T-Zell-Rosettentest	10
4. Lymphozytensubpopulationen bei lymphoproliferativen Erkrankungen	12
4.1. Immunschwächenkrankheiten	12
4.1.1. T-Zell-Defekte	12
4.1.2. B-Zell-Defekte	12
4.1.3. kombinierte Immundefekte	13
4.2. lymphoproliferative Erkrankungen	13
5. M. Hodgkin und die Lymphozytensubpopulation	16
5.1. Theorie der Pathogenese	16
5.2. T- und B-Zellmerkmale beim M. Hodgkin	17
5.3. Untersuchungen von Lymphknoten	18
5.4. Untersuchung von Blut	19
5.4.1. Verlaufskontrolle	19
5.4.2. Therapieeffekte	20
6. Methodik	21
6.1. Nachweis von T-Zellen	21
6.2. Nachweis von B-Zellen	21
6.3. Patienten	22
7. Resultate	27
8. Diskussion	31
9. Zusammenfassung	37
10. Literatur	38

Verhalten der Lymphozytensubpopulationen im Krankheitsverlauf der Lymphogranulomatose

1. Einleitung

Die Fortschritte der diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen haben den klinischen Verlauf der Lymphogranulomatose-erkrankung in den letzten Jahren wesentlich verändert. Die frühere Anschauung der unumstößlichen Fatalität dieser Erkrankung mußte durch die Erfolge moderner Diagnose- und Behandlungskonzepte revidiert werden. (15)

Neben dieser Tatsache darf nicht übersehen werden, daß die Ätiologie und die beste Behandlungsmethode dieser Erkrankung noch immer unbekannt sind.

Die Lymphogranulomatosis maligna oder auch Morbus Hodgkin ist eine neoplastisch-blastöse Erkrankung, die im Jahre 1832 erstmals von Thomas Hodgkin definiert wurde. (43) Hielt man die Krankheit schon vor vielen Jahren für eine, wenn auch nur schwache Form der Tuberkulose, so weisen auch neuere epidemiologische Untersuchungsergebnisse darauf hin, daß es sich um eine infektiös bedingte Erkrankung handeln könnte.

2. Die humane Lymphozytensubpopulation

2.1. Einleitung

Lange Zeit betrachtete man die Lymphozyten als nicht weiter differenzierbare Endzellen. Heute weiß man jedoch von ihrer Heterogenität und von den verschiedenen Reifungsstufen des lymphatischen Systems, welches aus zwei Hauptpopulationen besteht, den sogenannten B (B = bone marrow) und T (T = Thymus) Lymphozyten.

Bezüglich des Ursprungs dieser Subpopulationen existieren beim Menschen auch heute noch keine endgültigen Anschauungen. Diese Kenntnisse sind jedoch besonders wichtig, denn jüngste klinische und experimentelle Beobachtungen haben gezeigt, daß Immunmangelkrankheiten, Autoimmunerkrankungen und Malignome des lymphatischen Systems besser verstanden werden durch bessere Kenntnisse über diese Lymphozytensubpopulationen. (1)

2.2. Genese

2.2.1. Hämatopoetische Stammzelle

Verschiedene Forschungsergebnisse deuten darauf hin, daß T- und B-Lymphozyten unabhängige Differenzierungsreihen darstellen, die relativ fixiert sind, d.h. also Zellen, die in eine Reihe bereits determiniert und differenziert sind, können sich nicht mehr in die alternative Zellpopulation umformen (abgesehen von neoplastischen Entdifferenzierungserscheinungen).

Beide Entwicklungsreihen führen sich jedoch auf eine gemeinsame Vorläuferzelle zurück, die hämatopoetische Stammzelle.(?) Diese Zelle leitet sich ursprünglich im Dottersack von Vorläuferhämangioblasten ab. In der Foetalzeit wandern diese Zellen aus dem Dottersack über die foetale Leber zum Knochenmark.

Hämatopoetische Stammzellen sind fähig zur Selbsterneuerung und differenzieren sich unter bestimmten Induktionseinflüssen, möglicherweise von lokalen Einflüssen der Mikroumgebung herbeigeführt, progressiv in reife Elemente des hämatopoetischen Systems. (27) Markerstudien haben früher gezeigt: Die hämatopoetischen Stammzellen sind Vorläufer aller hämatopoetischen Elemente, einschließlich der lymphatischen, erythroiden und der myeloischen Reihe. (28) Die intermediäre lymphatische Stammzelle, die sich aus der initialen, hämatopoetischen Stammzelle entwickelt, kann sich weiter differenzieren durch Residenz und Proliferation im Thymus bzw. im "Bursa-äquivalent", was beim Menschen wahrscheinlich dem Knochenmark entspricht. (49)

Die Existenz einer lymphatischen Stammzelle, die sich entweder zu T- oder zu B-Zellen entwickeln kann, nicht jedoch in die erythroiden oder myeloischen Reihen, ist noch nicht experimentell gesichert und stellt nur ein theoretisches Postulat dar. So ist noch nicht klar, ob sich die hämatopoetische Stammzelle direkt in die betreffende immunkompetente T- oder B-Zel-

le umwandelt, bei entsprechender induzierender Umgebung, oder ob es mehrere verschiedene Differenzierungsstadien zwischen diesen beiden Zellarten gibt.

2.2.2. T-Lymphozyten

Die lymphatische Stammzelle kann sich unter dem Thymuseinfluß zum T-Lymphozyten umwandeln.

Diese Aufenthaltsperiode im Thymus ist verbunden mit intensiver, anscheinend überschießender Zellneubildung. Sie resultiert in der Differenzierung einer Zellpopulation, die charakteristische Oberflächenantigenmarker besitzt, wie das Isoantigen θ bei Mäusen. (29) Mit solchen kennzeichnenden Merkmalen ausgestattet, verlassen diese T-Lymphozyten dann den Thymus und zirkulieren im Organismus. Ihre Aufgaben sind die zellbedingten Immunreaktionen. (30,31)

Die antigenabhängige Stimulierung der T-Lymphozyten führt zur Entwicklung zweier funktionell verschiedener Zelltypen. Der eine ist direkt mit der zellulären Immunität befaßt, die andere, auch Helferzelle genannt, arbeitet mit den B-Zellen bei der Antikörperproduktion zusammen.

Endgültige Sicherheit, ob diese verschiedenen Funktionen von gleichen oder verschiedenen Zellen erfüllt werden, besteht jedoch beim Menschen noch nicht.

2.2.3. B-Lymphozyten

Die B-Zellreihe muß streng vom T-Zellsystem unterschieden werden. Sie stellt ein System von Immunzellen dar, die bei den Vögeln in der Bursa Fabricii, einem lymphoepithelialen Organ, das am posterioren Teil des Gastrointestinaltraktes lokalisiert ist, produziert werden. (32,33,34)

Obwohl die Peyerschen Plaques, der sacculus rotundus und der Appendix bei Hasen nach Laboratoriumsuntersuchungen von Good

(23) diese Funktion auszuüben scheinen, bleibt die Lokalisation des Bursa-äquivalents bei Säugetieren und bei Menschen unbekannt. Es könnte entlang des Gastrointestinaltraktes zu finden sein in irgendeiner Lymphoidzellakkumulation in intimer Beziehung zum Darm, oder wahrscheinlicher noch im Knochenmark. (49)

Unter dem Einfluß eines Bursaäquivalents entsteht also aus der Stammzelle der B-Lymphozyt. Dieses Differenzierungsstadium ist antigenunabhängig und ereignet sich bereits während des embryonalen Lebens. Die weitere Entwicklung zur aktivierten B-Zelle, auch als Immunoblast oder Plasmablast bezeichnet, wird durch Antigene ausgelöst, und diese Zellen sind dann zur Antikörpersekretion befähigt.

Eine fortgesetzte Differenzierung mit Zellteilung führt letztlich zur Bildung von Plasmazellen mit einer Immunglobulinproduktion der verschiedenen Klassen. Diese werden allgemein als Endzellen betrachtet, die zu keiner weiteren Differenzierung oder Teilung mehr fähig sind.

2.2.4. "null"-Zellen

Neben den T- und B-Lymphozyten bleibt bei verschiedenen Laboruntersuchungen ein gewisser Prozentsatz an unidentifizierten Lymphozyten zurück. Diese werden gewöhnlich als "Null"-Zellen bezeichnet.

Die Bedeutung dieser Zellen ist weitgehend unbekannt, doch ist es möglich, daß einige dieser "Null"-Zellen lymphatische Stammzellen darstellen, die sich noch nicht einer Differenzierung in T- oder B-Lymphozyten unterzogen haben. Außerdem muß diskutiert werden, daß ein Teil der "Null"-Zellen, nur B- und T-Lymphozyten darstellen, deren Merkmale wenig ausgeprägt sind.

Ihre Zahl ist oft erhöht bei Krankheiten mit Immunveränderungen und in einigen primären Immundefekterkrankheiten.

2.3. Funktion des B-T-Zellsystems

Bei allen Arten von Immunreaktionen haben diese beiden Lymphozytenpopulationen eine zentrale Aufgabe in der Antigenerkennung und Auslösung einer Immunantwort. (35)

Auch genügt heute, wie bereits erwähnt, nicht mehr eine einfache Zweiteilung, sondern man unterteilt diese Zellen in mehrere funktionelle Subpopulationen. Sie reicht von der immunkompetenten antigensensitiven Zelle, welche initial mit Antigen reagiert, bis zur Effektorzelle der zellbedingten Immunität.

2.3.1. zelluläre oder zellbedingte Immunität

Die Aufgaben der zellulären oder zellbedingten Immunität übernehmen die T-Lymphozyten. Sie betreffen die verzögerten allergischen Reaktionen (delayed hypersensitivity), die Transplantationsimmunität, die "Transplantat-gegen-Wirts"-Reaktion und die spezifische Immunabwehr gegen manche bakterielle Keime, (wie Tuberkelbakterien) Pilze und bestimmte Viren. (23,36)

Vor allem im Tierexperiment, weniger deutlich beim Menschen, beteiligen sich die T-Lymphozyten als sogenannte Helferzellen bei der Antikörperbildung der B-Zelllinie. Das Ausmaß des T-Zelleinflusses auf das Immunprodukt ist abhängig von der Antigenbeschaffenheit, und besonders groß bei Proteinen. Von dieser Wechselwirkung sind vor allem auch IgG-Antikörperantworten, zum Teil IgA-Antikörperantworten, nicht jedoch IgM-Antikörperantworten betroffen. Die wohl augenfälligste Kooperation zwischen B- und T-Lymphozyten ereignet sich bei der Immunantwort auf ein Hapten-carrier-Konjugat. (37,38,24)

Eine Zusammenarbeit von T- und B-Zellen besteht auch bei der immunologischen Toleranz, d.h. bei dem isolierten Ausfall einer Immunantwort eines sonst voll immunkompetenten Organismus. T-Zellen scheinen auch wirksam für die körpereigene Malignom-

abwehr, da der T-Lymphozytentransfer eine Rückbildung von Tumoren in vielen experimentellen Systemen bewirken kann. T-Zellen haben dabei die Fähigkeit Tumorzellen zu lysieren. (39) Obwohl die T-Lymphozyten einen großen Teil ihrer Funktion in direktem Zellkontakt erfüllen, produzieren sie zusätzlich verschiedene lösliche Vermittler, die als Lymphokine bezeichnet werden, und u.a. aus dem Lymphotoxin und dem Makrophagen inhibierenden Faktor (MiF) bestehen.

2.3.2. humorale Immunität

Die humorale Immunität ist Aufgabe der B-Lymphozyten. Sie tragen Oberflächenimmunglobuline, die höchstwahrscheinlich als Antigenrezeptoren wirken. Das B-Zellsystem ist für die Synthese und Sekretion aller Antikörperarten und aller zirkulierenden Immunglobuline verantwortlich. Diese Funktion wird nicht direkt von den B-Zellen, sondern von den aus ihnen später entwickelten Plasmazellen ausgeübt. Durch diese Antikörpersekretion stellt das B-Zellsystem ein Abwehrsystem gegen die Invasion bakterieller Keime in den Organismus dar, wie z.B.: Pneumokokken, Haemophilus influenza, Streptokokkus, meningokokkus und Pseudomonas aeruginosa. (23) Sie scheint auch bedeutend zu sein bei der Abwehr gegen bestimmte Viren, wie das Poliovirus und das Hepatitisvirus. (25) Zusätzlich zu den Oberflächenimmunglobulinen tragen die B-Zellen drei weitere nachweisbare Oberflächenrezeptoren. Der erste ist ein Rezeptor für hitzeaggregiertes γ -Globulin (Fc-Rezeptor), die beiden anderen sind spezifisch für Komplementkomponenten. Die Wirkung dieser Rezeptoren an B-Lymphozyten ist jedoch nicht klar. Man hat vermutet, sie seien verantwortlich für die Antigenlokalisation in den Keimzentren verschiedener lymphatischer Organe.

3. Nachweis der Subpopulationen

Zum Nachweis der Subpopulationen wurde eine Reihe von Tests entwickelt. Diese machen sich die unterschiedlichen Oberflächenstrukturen der Lymphozyten zunutze. (Tab. 1)

Besonders B-Zellen lassen sich dadurch in verschiedene Populationen unterteilen. Diese unterscheiden sich in Lokalisation im Organismus, Funktion und Differenzierungsstadium. Bei der T-Zellpopulation ist die Zahl der bekannten Differenzierungsmarker allerdings noch gering.

Tabelle 1: Immunologische Zellmarker an der Oberfläche von humanen Lymphozyten (aus 3)

B-Lymphozyten	1. Membranimmunglobuline 2. B-Zell-Antigene 3. Rezeptor für C ₃ d 4. Rezeptor für Epstein-Barr-Virus 5. Rezeptor für Fc-Fragment von IgG ₁ -IgG ₄
T-Lymphozyten	6. Rezeptor für Schaferythrozyten-antigen 7. T-Zell-Antigene
Aktivierte	
T-Lymphozyten	Kombination von 5 - 7

3.1. Membranimmunglobuline

Die verschiedenen Methoden zum Nachweis von Membranimmunglobulinen gehen aus folgender Tabelle hervor (nach Warner):

Tabelle 2: Methoden zum Nachweis von Membranimmunglobulinen an lymphoiden Zellen (2)

-
- | |
|---|
| A. Direkte Sichtbarmachung von Zell-anti-Ig:
Fluoreszenzkonjugation von Anti-Ig (light)
Radio-Jodierung von Anti-Ig (light, E/M)
Hybridisierung von Anti-Ig, Antivirus (E/M) |
|---|

- Ferritinkonjugation von Anti-Ig (E/M)
 - Enzymkonjugation von Anti-Ig (light, E/M)
 - B. Intermediäre Schichten:
 - Gemischte Anti-Ig (einfach oder doppelt)
 - Umgekehrte Immunzellhaftung (direkt oder gemischt)
 - C. Aktivierung des biologischen Prozesses:
 - Lymphozytentransformation
 - Cytotoxizität
 - Opsonische Anhaftung
 - D. Physikalische Methoden:
 - Elektrophorese
 - Anti-Ig Säulen
 - E. Charakterisierung und/oder Quantifizierung der Zellpopulations-Ig:
 - Hemmung der Hämagglutination
 - Radioimmunassay
 - Zelloberflächenjodierung
-

Die meisten dieser Methoden sind sehr aufwendig, und können daher keine klinische Bedeutung erlangen. Dies ist nur möglich für die relativ einfache Membranimmunfluoreszenz zum Nachweis der B-Lymphozyten, die auf Grund ihrer immunologischen Marker an der Zelloberfläche (IgG, IgM, IgA, IgD) mit polyvalenten fluorescein-konjugierten Antisera angefärbt und im Mikroskop unter UV-Licht differenziert werden können.

3.2. T-Zell-Rosettentest

T-Lymphozyten lassen sich unter anderem durch ihre Fähigkeit zur spontanen Rosettenbildung mit nativen oder Neuraminidase behandelten Schafserythrozyten nachweisen, da sich an ihrer Zelloberfläche Rezeptoren für ein Schafserythrozytenantigen befinden. Der Nachweis einer T-Zelle wurde in der Regel so definiert, daß ein Lymphozyt von mindestens drei Erythrozyten umgeben wird.

Zahlreiche andere T-Zellmarker haben sich als nicht spezifisch erwiesen, oder sind zu schwierig in ihrer Anwendung. (2)

B-Lymphozyten bilden nur mit Antikörper und Komplement behandelten Schafseerythrozyten Rosetten, dagegen nicht mit nativen Blutzellen.

Weitere Möglichkeiten des T-Zellnachweises sollen hier nicht erörtert werden.

4. Lymphozytensubpopulationen bei lymphoproliferativen Erkrankungen

4.1. Immunmangelkrankheiten (IMK)

Die Pathogenese dieser Erkrankungen beruht auf einer Differenzierungsstörung der lymphatischen Stammzelle in die Plasmazelle einerseits und in die reife T-Zelle andererseits, mit unterschiedlicher Lokalisation des Defektes. Die Erkrankung verläuft in der Regel umso schwerer, je früher die Differenzierungsstörung auftritt.

4.1.1. IMK mit T-Zelldefekten

Kongenitale Thymusdysplasie (Nezelof-Syndrom), sowie kongenitale Aplasie von Thymus und Parathyrecidea (Di George-Syndrom) sind klassische Beispiele für isolierte primäre Immundefekte des T-Zellsystems. (16)

Funktionelle Tests und Oberflächenmarker zeigen, daß hier eine verminderte T-Lymphozytenzahl vorliegt, während der B-Zellanteil oft kompensatorisch erhöht ist.

4.1.2. IMK mit B-Zelldefekten

Bei den primären B-Zelldefekten unterscheidet man im wesentlichen zwei Hauptgruppen (16):

- 1) Erkrankungen mit völligem Fehlen oder extremer Verminderung der Immunglobulin tragenden Lymphozyten im peripheren Blut.
- 2) Zustände mit normaler Zahl Immunglobulin-positiver Blutlymphozyten bei Fehlen von Plasmazellen.

Zur ersten Gruppe zählt die infantile geschlechtsgebundene Agammaglobulinämie (Bruton'sche Agammaglobulinämie). Lymphozyten mit Oberflächenimmunglobulinen im Knochenmark und im Blut sind meist hochgradig reduziert oder sie fehlen völlig.

Trotz niedriger oder fehlender IgG, IgM und IgA sind aber normale Serum- IgE und normale IgE-tragende Lymphozyten vorhanden.

Zur zweiten Gruppe gehören Patienten mit variabler Immundefizienz. Die vorhandenen B-Zellen scheinen hier grundsätzlich zur Umwandlung in Plasmazellen fähig zu sein. Ihre Differenzierung und Reifung ist allerdings in einem frühen Stadium unterbrochen. Möglicherweise liegt eine Störung des Triggermechanismus vor, der die terminale B-Zelldifferenzierung in Antikörper-sezernierende Plasmazellen veranlaßt. (Nachweis von C_3 und Fc-Rezeptoren). (16) Der T-Zellanteil ist bei B-Zelldefekten entweder im Normbereich oder entsprechend der Verminderung der Ig-positiven B-Lymphozyten erhöht. (16)

4.1.3. IMK mit kombinierten Immundefekten

Hierzu gehören das Wiskott-Aldrich-Syndrom, die Ataxia-teleangiectatica, selektiver IgA-Mangel und die schweizer Form der Agammaglobulinämie. Bei Patienten mit Wiskott-Aldrich-Syndrom können sowohl eine Verminderung der IgM-tragenden Lymphozyten und E-Rosetten bildenden Zellen, als auch Normalwerte für Ig-positive T- und B-Zellen beobachtet werden.

Die Ataxia-teleangiectatica zeigt, trotz erniedrigter IgA-Konzentration im Serum, IgA-positive Blutlymphozyten. Komplement-Rezeptor-Lymphozyten sind erhöht, während die T-Lymphozyten im Normbereich oder vermindert sind. (16)

4.2. Lymphoproliferative Erkrankungen

Die Pathogenese dieser Erkrankungen kann ebenfalls mit einer Differenzierungsstörung und neoplastischer Transformation lymphoider Zellen erklärt werden, und durch die Untersuchung von Zellmarkern auf den Tumorzellen kann diese Störung wiederum nachgewiesen werden.

Entsprechend den Immundefizienzkrankheiten kann dabei diese Krankheitsgruppe folgendermaßen klassifiziert werden:

Tabelle 3: Vorläufige immunologische Klassifikation
lymphoproliferativer Erkrankungen (3)

	Neoplastische Transformation von	
	B-Lymphozyten	T-Lymphozyten
1. Chronische Lymphadenose	x	
2. M. Waldenström	x	
3. Haarzelleukämie	x	
4. Malignes Lymphom	teilw. x	x
a) Burkitt-Lymphom	x	
b) noduläres Lymphom	x	
c) M. Hodgkin	x ?	
d) Convoluted type		x
5. Sézary-Syndrom		x
6. Akute Lymphoblasten-leukämie im Kindesalter		teilw. x

1. Chronische Lymphadenose

Das Vorhandensein von Oberflächenimmunglobulinen, C_3 und Fc-Rezeptoren auf CLL-Lymphozyten, deutet auf eine B-Zellproliferation hin. Patienten mit CLL weisen eine, sowohl relative, als auch absolute Vermehrung von B-Zellen auf. (4)

Mittelwerte absoluter T-Zellzahlen liegen dagegen nur gering über Normalwerten, ihre relative Häufigkeit ist jedoch signifikant vermindert. (4)

2. M. Waldenström

Beim M. Waldenström liegt eine monoklonale Proliferation der B-Zellen vor, die sowohl zur Synthese als auch zur Sekretion von IgM befähigt sind.

3. Haarzelleukämie

Es handelt sich hierbei um eine Proliferation von Zellen, die immunologisch wie elektronenoptisch die Charakteristika von B-Zellen aufweisen (cytochemisch zudem Eigenschaften der Monozyten).

4. Malignes Lymphom

Beim malignen Lymphom sind häufig Zellmarker der B-Zellpopulation auf den Tumorzellen nachweisbar; dies manifestiert sich bei einer Generalisation durch erhöhte Absolutzahlen und veränderte Prozentsätze von B-Lymphozyten, sowie geänderte Häufigkeiten der Ig-Typen von B-Zellen im peripheren Blut und normalem Serum-Ig-Spiegel. (5)

Außerdem beobachtet man vor allem im Kindesalter maligne Lymphome, die T-zellcharakteristika nachweisen lassen, und die daher, abgesehen von bestimmten Vorbehalten, als eine maligne Proliferation einer T-Zellpopulation betrachtet werden können.

a) Burkitt-Lymphom

Das Burkitt-Lymphom besteht aus Tumor-Zellen mit B-Zell-Markern. So trugen die Blasten vorwiegend Oberflächenimmunglobuline der Klasse IgM. (1) Beobachtungen von Mendes et. al. (6) zeigten entsprechend einen Mangel an Rezeptoren für Schaff-erythrozyten.

b) noduläre Lymphome

Sie kommen bei Kindern nicht vor. Sie entwickeln sich aus den Lymphfollikeln und besitzen dementsprechend verschiedene B-Zellcharakteristika, vor allem Rezeptoren für Complement-komponenten.

5. Sézary-Syndrom

Die mononukleären Sézary-Zellen tragen weder Oberflächen-Ig noch Fc- oder C₃-Rezeptoren. Aus der Reaktion mit Anti-T-zellen Serum und E-Rosettenbildung kann auf die T-Zellnatur die-

ser Zellproliferation geschlossen werden.

6. Akute Lymphoblastenleukämie (ALL)

In etwa 20 % der Fälle mit ALL zeigen die Blasten T-Zellmerkmale (E-Rosetten, Reaktion mit Anti-Thylozyten-Serum).

In der Mehrheit ist jedoch keine T- oder B-Zellzuordnung zu treffen. (6,16) Daher wird vermutet, daß es sich bei der ALL meist um un- oder undifferenzierte Lymphoblasten handelt, die oft keine bisher bekannten T- oder B-Zellmarker besitzen. (Stammzellen ?)

Im Kindesalter wurde allerdings wiederholt über eine T-Zellzuordnung berichtet, bei einer besonders malignen Verlaufsform der ALL. (1)

5. M. Hodgkin und die Lymphozytensubpopulation

5.1. Theorie der Pathogenese

Auf der Grundlage von Beobachtungen in Labor und Klinik haben Order und Hellman (7,10) eine Hypothese über die Pathogenese des M. Hodgkin aufgestellt. Diese stellt eine Verknüpfung mehrerer Gesichtspunkte früherer Untersuchungen dar. Kaplan und Smithers (7) hatten auf die große morphologische Ähnlichkeit zwischen der "Transplantat gegen Firts"-Reaktion bei Tieren und Hodgkin'scher Krankheit hingewiesen.

Schwartz et al. (7) hatte das Auftreten maligner Lymphome als Folge chronischer "Transplantat gegen Firts"-Erkrankung beschrieben, und von Moore und Old (19) war schließlich die maligne Transformation von T-Zellen durch Viren demonstriert worden.

Order und Hellman weisen nun an, daß T-Zellen von einem tumor-induzierenden Virus infiziert wurden, was mit einer Veränderung in derelloberflächenantigenstruktur einhergeht. Gegen diese virus-transformierten Zellen beginnen normale unveränderte T-Zellen zu reagieren; diese T-Zell-Wechselwirkung

und Aktivierung, die einer "Transplantat gegen Wirts"-Reaktion ähnlich ist, soll daraufhin zur Produktion einer malignen Histozyten-Reihe (auch als neoplastische Retikulumzellen bezeichnet) führen. Beweise hierfür ergaben sich aus Tierversuchen.

Diese Zellen stellen die maligne Komponente der Krankheit dar. Danach ist die Hodgkin'sche Krankheit ein komplexes Gemisch aus der Wechselwirkung normaler und transformierter T-Zellen einerseits, und dem Auftreten von neoplastischen Retikulumzellen und ihrer vielkernigen Endform, der Reed-Sternberg-Zelle, andererseits. Auslösendes Moment wäre dabei die viral bedingte T-Zelltransformation. (10,13)

Sie nehmen weiter an, diese Reaktion würde zur T-Zelldepletion und der für den M. Hodgkin so charakteristischen Anergie, dem Verlust der zellulären Immunreaktion führen, was in dieser Art bei angeblich keinem anderen malignen Neoplasma gefunden wird. (8,10)

Diese Zelltransformation und anschließende zellbedingte Autoimmunreaktion soll also zu der charakteristischen Histopathomorphologie des M. Hodgkin führen.

5.2. T- und B-Zellmerkmale beim M. Hodgkin

Man sollte annehmen, daß auf Grund der Theorie von Order und Hellman beim M. Hodgkin ein T-Zelldefekt vorliegt.

Immunologische Untersuchungen mit Zellmarkern zeigten jedoch, daß Hodgkinzellen unter definierten Bedingungen mit Schafserythrozyten keine Rosetten bilden. (44)

Weiter fand man zwei B-Zellantigene an der Oberfläche und intrazellulär ließen sich Immunglobuline nachweisen.

Damit ist eine B-Zellnatur dieser Zellen sehr wahrscheinlich. Wenn man auch argumentieren kann, daß das intracytoplasmatische Immunglobulin durch Phagozytose aufgenommen wurde, so ist dies unwahrscheinlich, da dort das Immunglobulin in

monoklonaler Form vorliegt. Über das Verhalten der B- und T-Zellen im Blut liegen unterschiedliche Angaben vor. Zum Teil wurden normale, zum Teil verminderte oder erhöhte Prozentzahlen für die Ig-positive Lymphozytenpopulation im Blut beschrieben. (15) Einen B-Zellanstieg fand man vor allem nach der Strahlentherapie. Vermindert war entsprechend der Prozentsatz der Blutlymphozyten mit den spezifischen Membraneigenschaften der T-Zellen. (E-Rosettenbildung, Reaktion mit Anti-T-Zellen-Serum). (16)

5.3. Untersuchung von Lymphknoten

Der Anteil rosettenbildender Lymphozyten aus Lymphknotenbiopsien ist in etwa gleich dem im peripheren Blut. Es existiert anscheinend auch kein Unterschied zwischen histologisch befallenen und nicht befallenen Lymphknoten bezüglich des relativen Anteils rosettenbildender Zellen. Ebenso wenig hat eine vorausgehende Therapie nach Untersuchungen von Michlmayr et al. (18) faßbare Verminderungen des relativen T-Zellanteils zur Folge.

Bei Patienten nach Hochvolt- oder cytostatischer Chemotherapie ist die T-Zellgesamtzahl gegenüber unbehandelten Patienten allerdings signifikant vermindert.

Weiter lag bei Untersuchungen von Huber et al. (4) der Prozentsatz von T-Zellen (^{125}I -AGG-sowie ^{125}I -anti-GAM-bindender Zellen) bei befallenen Lymphknoten etwas höher als bei histologisch unauffälligen Lymphknotenbiopsien, war aber nicht signifikant unterschieden.

Huber et al. untersuchten auch Suspensionen von befallenen Lymphknoten mit Antiseren gegen verschiedene Ig-Typen und Klassen, fanden aber keinen Hinweis auf eine selektive Vermehrung einer bestimmten Ig-Klasse.

Wenn so keine eindeutigen Veränderungen gegenüber normalem Lymphknotengewebe vorgefunden wurden, vermutete man dann, daß

bei normaler Ausprägung der Zellmarker die Funktion dieser Lymphozyten verändert ist. Dies schienen auch erste Befunde über die PHA-Stimulierbarkeit der Lymphozyten von Hodgkin-Patienten zu bestätigen. Aber da die PHA-Stimulation nicht mehr als eine ausschließliche Funktionsprüfung von T-Lymphozyten angesehen werden kann, ist die Interpretation dieser Befunde schwierig.

5.4. Untersuchung von Blut

Die Untersuchung von Blut ist für den Kliniker wohl die einfachste und zugleich gebräuchlichste Methode zur Beurteilung vieler Erkrankungen, und da Blutuntersuchungen regelmäßig wiederholt werden können, besteht die Möglichkeit, Verlauf, Prognose und Therapie ständig kontrollieren zu können.

5.4.1. Verlaufskontrolle

Die Verlaufskontrolle einer Erkrankung durch wiederholte Blutuntersuchungen soll, ganz allgemein, das jeweilige Krankheitsstadium kennzeichnen, und eine Verschlechterung oder Verbesserung des Befundes frühzeitig erkennen lassen.

Aisenberg und Wiseman (11,47) zeigten, daß Beziehungen zwischen Lymphozytenzahl und Krankheitsverlauf bestehen, und daß bei Fortschreiten der Erkrankung eine Lymphozytopenie auftritt. Ihre Beobachtungen wurden auch bei Patienten ohne Therapie durchgeführt und ergaben bei Wiseman in 87 % der Fälle eine Verminderung der Lymphozytenbeträge.

Eine solche Aussage ist jedoch nicht immer möglich, da infolge der langfristigen intensiven Chemotherapie und Radiotherapie bei bestimmten Stadien die Lymphozytopenie nicht durch die Aktivität des Krankheitsprozesses, sondern allein therapiebedingt ist. Auch bedeuten diese Beobachtungen nicht, daß die Lymphozytopenie die einzige Ursache des oft beschriebenen Immundefekts beim M. Hodgkin sei, da eine Reduktion der zellulären Immunreaktionen bereits im frühen Stadium des M. Hodgkin vor-

liegen kann, wo noch keine Lymphozytopenie vorhanden ist.
(11)

Seit man weiß, daß die Lymphozytenpopulation nicht homogen ist, weder in morphologischer noch in funktioneller Hinsicht, wäre es möglich, daß bereits sehr früh im Verlauf der Hodgkin-schen Krankheit ein selektiver Mangel einer Lymphozytensubpopulation eintritt, der durch bloßes Auszählen der Gesamtlymphozytenzahl im Blut nicht erkannt wird. Diese Lücke sollen die hier dargestellten Untersuchungen auf Oberflächenmarker ausfüllen.

Eine weitere Bedeutung könnte die Verlaufskontrolle durch Untersuchung der Lymphozytensubpopulation in der Erkennung von Behandlungsphasen mit erhöhter Infektionsgefahr sein. Dies ist besonders wichtig, da die therapiebedingte Infektneigung dieser Patienten mitunter zu lebensgefährlichen Krankheitsbildern wie Sepsis, Pneumonien, cerebrale Infektionen führen kann, die zumindest eine längere Behandlungspause erfordern. Eine Früherkennung dieser Krankheitsphasen wäre daher von klinisch praktischem Interesse.

5.4.2. Therapieeffekte

Huber et al. (4) fanden bei behandelten Patienten eine signifikante Verminderung von Blutlymphozyten, von der beide Subpopulationen im Durchschnitt ähnlich betroffen waren. Da es bisher keine Möglichkeiten gab, die therapieinduzierte von der krankheitsprozess-bedingten Leukopenieform zu differenzieren, ist es wichtig, diese klinisch bedeutsame Unterscheidung eventuell durch eine Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen zu erreichen. So verlangt eine therapiebedingte Lymphopenie eine Reduzierung der Therapie (Cytostase, Radiatio), zum anderen aber eine krankheitsbedingte Lymphopenie eine Therapieintensivierung. Ob die Lymphozytendifferenzierung in dieser praktisch wichtigen Frage eine Entscheidungshilfe leisten kann, sollen diese hier dargestellten Untersuchungen klären.

6. Methodik

6.1. Nachweis der T-Lymphozyten

Heparinisiertes Blut wurde, zur Trennung der Lymphozyten von den übrigen phagozytierenden Blutzellen, für 15 Minuten mit einer Messerspitze Eisenpulver vermischt und auf einem Rotationsmischer inkubiert. Die anschließende Isolierung der Lymphozyten erfolgte auf einem Ficoll-Hypaque-Gradienten; es wurde 30 Min. lang bei 1300 U/Min. zentrifugiert. Der deutlich sichtbare Lymphozytenring wurde mit einer Pasteurpipette abgehoben und zwei Mal in FBS (gepufferte Phosphatlösung) 7 Min. lang bei 1000 U/Min. gewaschen. Die Zellen wurden nun auf $1 \cdot 10^6$ in 0,5 ml eingestellt und 0,5 ml dieser eingestellten Lymphozyten mit 0,5 ml 0,5%-iger Schafserythrozyten-suspension (5 ml NaCl + 0,05 ml 50%-iger SRBC) vermischt, anschließend 5 Min. leicht geschwenkt und weitere 5 Min. bei 900 U/Min. zentrifugiert. Das erhaltene Produkt blieb 4 Stunden im Kühlschrank (bei 4° C), um dann vorsichtig resuspendiert zu werden.

Das Auszählen der Rosetten in der Zählkammer erfolgte unter dem Lichtmikroskop. Als Rosette galt eine Zelle die mindestens 3 SRBC gebunden hatte. Durch Auszählen von wenigstens 100 Zellen wurde das Verhältnis von rosettenbildenden zu nicht-rosettenbildenden Zellen bestimmt.

6.2. Nachweis der B-Lymphozyten

Heparinisiertes Blut wurde wiederum 15 Min. mit einer Messerspitze Eisenpulver vermischt. Die anschließende Isolierung der Lymphozyten erfolgte ebenfalls auf einem Ficoll-Hypaque-Gradienten durch 30-minütige Zentrifugation bei 1300 U/Min. Der Lymphozytenring wurde mit einer Pasteurpipette abgehoben und einmal bei 1000 U/Min. 7 Min. lang in 0,9 % NaCl gewaschen. Nach Abheben des Überstandes und Zugabe von 0,02 ml Neuraminidase (Fa. Behring), wurde 30 Min. lang bei 37° inkubiert.

Im Anschluß daran folgte einmaliges Waschen in NaCl/NaNO₃ und Umfüllen der Zellsuspension in Eppendorfgläser. Diese verblieben nach Zugabe von 0,02 ml Antiserum 25 Min. bei 4° C in Eisbad. Erneut wurde zweimal in NaCl/NaNO₃ gewaschen. Die Zellsuspension wurde nun 5 Min. bei 500 U/Min. in der Zytocentrifuge auf Objektträger aufgetragen, das Präparat darauf mit einem Tropfen Alkohol fixiert und mit Elvanol (R) eingebettet.

Jeder Objektträger wurde mit Dunkelfeldtechnik unter Verwendung von sichtbarem Licht geprüft. Die anwesenden Lymphozyten wurden identifiziert und anschließend unter UV-Licht jene mit spezifischer Membranfluoreszenz im Verhältnis dazu ausgezählt. Mindestens 100 Lymphozyten wurden ausgewertet.

6. Patienten

Die Häufigkeit von T- und B-Lymphozyten im peripheren Blut wurde bei insgesamt 13 Kindern mit M. Hodgkin wiederholt untersucht. Die Untersuchungen erstreckten sich über einen Zeitraum von 36 Monaten.

Das Alter der Jungen lag bei Beginn der Versuchsreihe zwischen 5 und 17 Jahren, während alle Mädchen 12 Jahre alt waren. Die Geschlechtsverteilung männlich : weiblich verhielt sich wie 9 : 4.

Die Verteilung der Krankheitsstadien geht aus Tabelle 3 hervor.

Tabelle 3

Stadium	Ia	Ib	IIa	IIb	IIIa	IIIb	IVa	IVb
♂	2*	1			1	4	1	
♀				1	2		1	

*) Bei Patient D.S. liegt keine Angabe ob Stadium Ia oder Ib vor. Die histologische Einteilung nach der allgemein gebräuchlichen internationalen Klassifikation (15) war wie folgt:

Tabelle 4

Patient	Lymph. predominanz	Nodul. sklerosierend	Mischtyp	Lymphozyten- depletion
1) G.F.			x	x
2) P.W.		x		
3) G.A.			x	
4) H.H.			x	
5) M.R.	x		x ₁	
6) B.R.			x	
7) W.S.		x	x	
8) H.K.		x		
9) M.F.			x ₂	
10) M.M.			x	
11) H.P.			x	
12) T.H.	keine histologische Bestimmung!			
13) D.S.				

¹epitheloidzellige-lymphozytenreiche Form

²diffuse lympho-histiozytäre Form

Alle Patienten (außer D.S.) erhielten entweder Cytostatika und die meisten eine Bestrahlungstherapie unterschiedlicher Ausdehnung. Außerdem wurde nach Entlassung aus der Klinik alle 2 Wochen eine ambulante Kontrolluntersuchung durchgeführt.

Die Behandlung wurde entsprechend dem Protokoll des St. Jude Hospital (15) vorgenommen, das sich insbesondere dadurch von anderen Therapiekonzepten unterscheidet, daß bereits im Krankheitsstadium I Cytostatika eingesetzt werden. Die Bestrahlungstherapie wurde nach folgenden Richtlinien durchgeführt:

Beim Stadium I (lokalisierte noduläre oder extranoduläre Erkrankung) sollte für eine Zeit von wenigstens 4 Wochen das

befallene Gebiet und alle direkt benachbarten normalen Lymphknotenareale, einschließlich aller möglichen Ausbreitungswege, eine Bestrahlung von 3000 - 4000 r HD erhalten.

Im Stadium II (regionale Erkrankung) sollte mindestens 4 Wochen lang mit einer Bestrahlung von 3000 - 4000 r HD die befallene Körperhälfte mit entsprechendem Schutz des nicht befallenen extranodulären Gewebes behandelt werden. Die Bestrahlung der unteren Körperhälfte konnte auf peri-aortale, iliakale und inguinale Gebiete beschränkt werden, ist aber abhängig von der Ausdehnung der abdominalen Erkrankung. Der Schutz von Leber und Nieren sollte gewährleistet sein. Die Therapie des Stadiums III (biregionale extensive noduläre Erkrankung) ist langwierig. Sie besteht aus einer radikalen Bestrahlung mit 3000 - 4000 r HD, die nacheinander mindestens alle Gebiete des nodulären Befalls und bevorzugt alle Lymphknotengebiete umfaßt.

Dies ist natürlich abhängig von der Toleranz des Patienten gegenüber einer solch intensiven Therapie.

Bei der generalisierten Erkrankung des Stadiums IV wird die Bestrahlung in erster Linie zur Schmerzlinderung, Behebung hinderlicher Symptome, usw. empfohlen.

Die Chemotherapie wird als Zusatz zur Bestrahlungstherapie bei den Stadien I, IIa, IIb und IIIa betrachtet.

Im Stadium IIb ist sie von gleicher Wichtigkeit wie die Bestrahlung, und im Stadium IV wird die Chemotherapie dazu verwendet, die Krankheit zu kontrollieren (zusammen mit der Bestrahlung) was jedoch von sekundärer Bedeutung ist.

Stadium Ia und Ib:

Vincristin $1,0 \text{ mg/m}^2$ I.V. wöchentlich x 12 Dosen.

Cyclophosphamid 200 mg/m^2 I.V. wöchentlich x 12 Dosen.

Die Dosierung ist so einzustellen, daß ein weißer Blutzellübertrag von 3000 - 4000 aufrechterhalten wird.

Diese Therapie wird nach 12 Wochen abgebrochen.

Stadium IIa (ohne Allgemeinsymptome):

Intensive Phase:

Vincristin $1,0 \text{ mg/m}^2$ I.V. wöchentlich x 12 Dosen.

Cyclophosphamid 200 mg/m^2 I.V. wöchentlich x 12 Dosen,

Fortsetzung:

Vincristin $1,5 \text{ mg/m}^2$ I.V. alle 2 Wochen für ein Jahr nach Beginn der Chemotherapie oder 20 Injektionen.

Stadium IIb (mit Allgemeinsymptomen):

Intensive Phase:

Procarbazin 100 mg/m^2 P.O. täglich x 28 Tage.

Vincristin $1,0 \text{ mg/m}^2$ I.V. wöchentlich x 12 Dosen.

Cyclophosphamid 200 mg/m^2 I.V. wöchentlich x 12 Dosen.

Fortsetzung:

Vincristin $1,5 \text{ mg/m}^2$ I.V. alle 2 Wochen bis 2 Jahre nach Beginn der Chemotherapie oder 46 Injektionen.

Die Dosierung der Chemotherapie der Stadien IIa und IIb sollte so eingestellt werden, daß der weiße Blutzellbetrag zwischen 3000 und 4000 liegt.

Stadium IIIa (ohne Allgemeinsymptome):

Intensive Phase:

Procarbazin 100 mg/m^2 P.O. täglich x 28 Tage.

Vincristin $1,0 \text{ mg/m}^2$ I.V. wöchentlich x 12 Dosen.

Cyclophosphamid 200 mg/m^2 I.V. wöchentlich x 12 Dosen.

Fortsetzung:

Vincristin $1,5 \text{ mg/m}^2$ I.V. alle 2 Wochen für 46 Injektionen oder bis zu zwei Jahren nach Beginn der Chemotherapie.

Cyclophosphamid 300 mg/m^2 I.V. alle 2 Wochen für 46 Injektionen oder bis zu zwei Jahren nach Beginn der Chemotherapie.

Stadium IIIb (mit Allgemeinsymptomen):

Intensive Phase:

Prednison 40 mg/m^2 P.O. täglich x 14 Tage.

Procarbazin 100 mg/m^2 P.O. täglich x 28 Tage.

Vincristin $1,0 \text{ mg/m}^2$ I.V. wöchentlich x 12 Dosen.

Cyclophosphamid 600 mg/m^2 I.V. wöchentlich x 12 Dosen.

Fortsetzung:

Vincristin $1,5 \text{ mg/m}^2$ I.V. alle 2 Wochen für 46 Injektionen oder bis 2 Jahre nach Beginn der Chemotherapie.

Die Dosierung der Chemotherapie der Stadien IIIa und IIIb sollte so eingestellt werden, daß der weiße Blutzellbetrag zwischen 3000 und 4000 liegt.

Stadium IV (generalisierte Systemerkrankung):

Intensive Phase:

Prednison 40 mg/m^2 P.O. täglich x 14 Tage.

Procarbazin 100 mg/m^2 P.O. täglich x 42 Tage.

Vincristin $1,0 \text{ mg/m}^2$ I.V. wöchentlich x 12 Dosen.

Cyclophosphamid 200 mg/m^2 I.V. wöchentlich x 12 Dosen.

Fortsetzung:

Vincristin $1,5 \text{ mg/m}^2$ I.V. alle 2 Wochen für 46 Injektionen oder 2 Jahre nach Beginn der Chemotherapie.

Cyclophosphamide 300 mg/m^2 I.V. alle 2 Wochen für 46 Injektionen oder 2 Jahre nach Beginn der Chemotherapie.

Die Dosierung der Chemotherapie soll so eingestellt werden, daß ein weißer Blutzellbetrag von 3000 - 4000 aufrechterhalten wird.

7. Ergebnisse

In Abbildung 1 und 2 sind die Prozentzahlen der T- und B-Lymphozyten aller Patienten (alle Krankheitsstadien) seit Beginn der Bestrahlungstherapie aufgetragen.

Nicht aufgeführt sind die Patienten H.K. und D.S., die keine Bestrahlung erhielten, erstere weil sie bei Diagnosestellung bereits Stadium IV erreicht hatte, letzterer wird nicht mehr in Erlangen behandelt.

Beim Patienten F.H. liegt die Bestrahlung schon 6 Jahre zurück und jeweils nur ein Wert vor, so daß eine Einordnung unmöglich ist.

Beide Zellpopulationen schwanken ausgesprochen bei allen Krankheitsstadien; es fällt lediglich auf, daß die B-Zellen in der Regel niedriger als die T-Zellen sind und ebenfalls stark unterschiedliche Absolutbeträge aufweisen. (3 % - 82 % bei B-Zellen gegenüber 3 % - 63 % bei T-Zellen).

Auf die Umrechnung auf B- bzw. T-Lymphozyten pro Volumeneinheit wurde verzichtet, da daraus keine zusätzliche Information zu gewinnen war, wie erste, vorläufige Berechnungen zeigten.

Die stärksten Schwankungen ereignen sich anscheinend in den ersten 15 Monaten seit Beginn der Bestrahlungsbehandlung. Dies kann jedoch an der größeren Zahl der in diesem Zeitraum ermittelten Werte liegen.

Wie bereits erwähnt, erstreckte sich die Beobachtungszeit über insgesamt 3 Jahre. Während bei einzelnen Patienten in relativ kurzer Zeit sehr viele Werte ermittelt werden konnten (z.B. G.A.), liegen bei anderen Patienten die Beträge bis zu 12 Monate auseinander. (P.W.)

Alles in allen ist an Hand der Abbildungen 1 und 2 keine Aussage über eine Beziehung der Subpopulation zur Bestrahlung möglich.

Eine Mittelwertbildung aller bestimmten Prozentsätze von T- und B-Lymphozyten bei behandelten Patienten stellt die Abbildung 3 dar. In erster Linie fällt die deutliche B-Zellverminderung im fortgeschrittenen Stadium des M. Hodgkin auf. Die T-Zellverminderung ist zu gering und daher nicht signifikant. Im Verhältnis zu Normalwerten kann man von keiner Veränderung sprechen, da die hier bestimmten Durchschnittswerte noch innerhalb der 26-Grenze liegen. Auch hierbei fällt die extreme Streubreite der Einzelwerte auf.

Der scheinbare B-Zellanstieg von Stadium I zu Stadium II ist nicht signifikant, es liegen jeweils nur 4 Werte vor. Die

Abbildung 4 zeigt die Veränderung der Subpopulation nach Cytostasebeginn, Bestrahlungsbeginn und Splenektomie beim Patienten G.A.

Am Beispiel dieses Patienten sind die Veränderungen der Subpopulationen während des Krankheitsverlaufs, sowie die therapeutischen Maßnahmen dargestellt. Betrachtet wird der Zeitraum seit Diagnosestellung (29.11.73) bis 9.10.75. Nach kurzer und intensiver Cytostase (7.12.73 - 17.12.73) folgt eine therapiefreie Phase von 8 Monaten, in der die Subpopulationen wechselhaft erhöht und dann wieder vermindert befunden werden. Ob die Splenektomie am 24.7.74, die zweite cytostatische Behandlungsphase (2.8. - 24.12.74), oder die Bestrahlung (12.8. - 18.12.74) die Ursache für ein scheinbares Ansteigen der B-Lymphozyten bzw. ein Absinken der T-Lymphozyten sind, kann nicht eindeutig gesagt werden, da in diesem Zeitraum die ermittelten Werte ca. 5 1/2 Monate auseinander liegen. In dritten Abschnitt der graphischen Darstellung (18.12.74 - 9.10.75) fallen wieder die starken Schwankungen der beiden Subpopulationen auf (in dieser Zeit erfolgte nur ambulante Chemotherapie) mit extremen B-Zellwerten von 4 % - 64 % und T-Zellenwerten von 11 % - 59 %.

Eine Zuordnung zu einer bestimmten Therapieform ist nicht möglich.

T-Lymphozyten bei 10 Patienten mit M. Hodgkin
während der Behandlung.



B-Lymphozyten bei 10 Patienten mit M. Hodgkin
während der Behandlung.

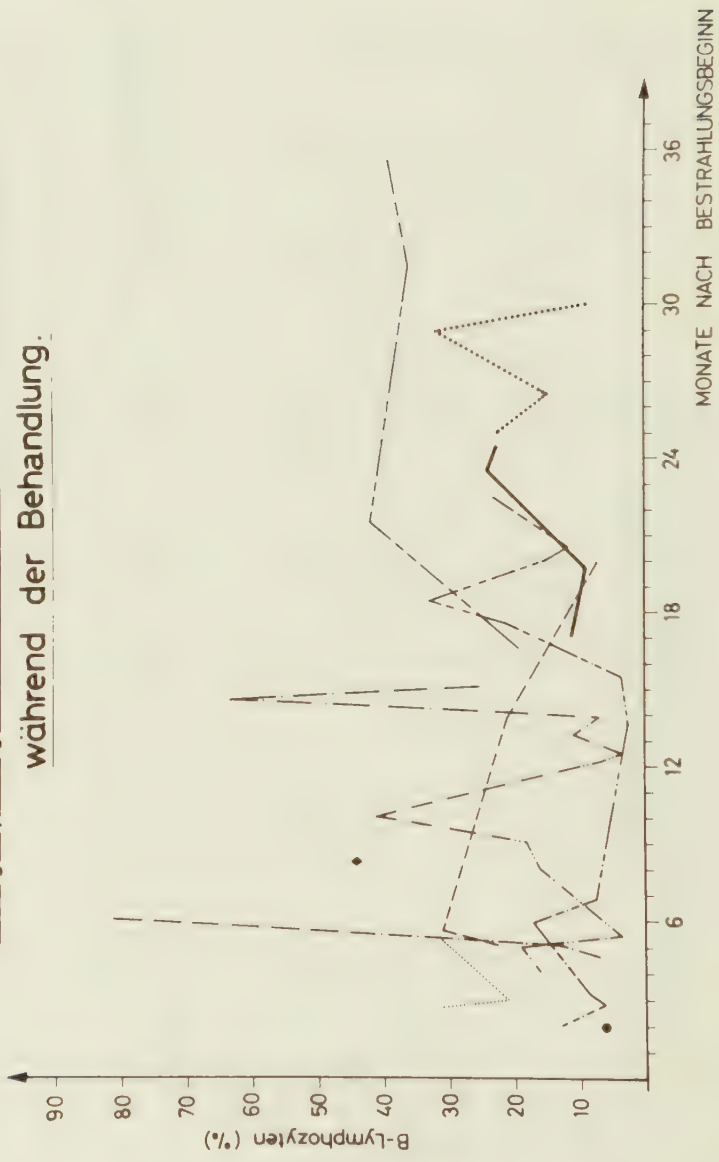


Abb. 2

8. Diskussion

Für die Verlaufskontrolle der Krankheitsaktivität einer Lymphogranulomatose steht eine große Anzahl blutchemischer, röntgenologischer und nuklear-medizinischer Verfahren zur Verfügung. Erfahrungsgemäß reicht bereits ein 5-Punkte-Laborprogramm zur sicheren Kontrolle aus. Es umfaßt BKS, Differentialblutbild, Fibrinogen, sowie Serumeisen und Serumkupferbestimmung.

Die Parameter sind nach Ergebnissen von Dietzel et al. (42) in mindestens 50 % der Fälle erkrankter Patienten (überprüft wurden Rezidivpatienten) positiv, d.h. BKS, Fibrinogen und Serumkupfer sind erhöht, Serumeisen ist erniedrigt und die Lymphozytenzahl liegt unter $700/\text{mm}^3$.

Die alkalische Serumphosphatase die in 42 % der Fälle erhöht war, könnte eventuell als sechster Parameter hinzugezogen werden. Nach Meinung von Dietzel et al. (42) ist sie jedoch kaum für eine Verlaufskontrolle geeignet, da sie in weniger als 20 % verändert war. Dem steht die Aussage von Flury und Wegmann (45) gegenüber, die im aktiven Krankheitsstadium hohe Werte beobachteten und bei spontaner, sowie durch die Behandlung bedingter Remission niedrige oder normale Werte fanden. Es besteht nach diesen Autoren also eine enge Be-

Verhalten der T und B Lymphozyten bei 10 Patienten

mit M. Hodgkin Stadium I - IV

T/B Lymphozyten (%)

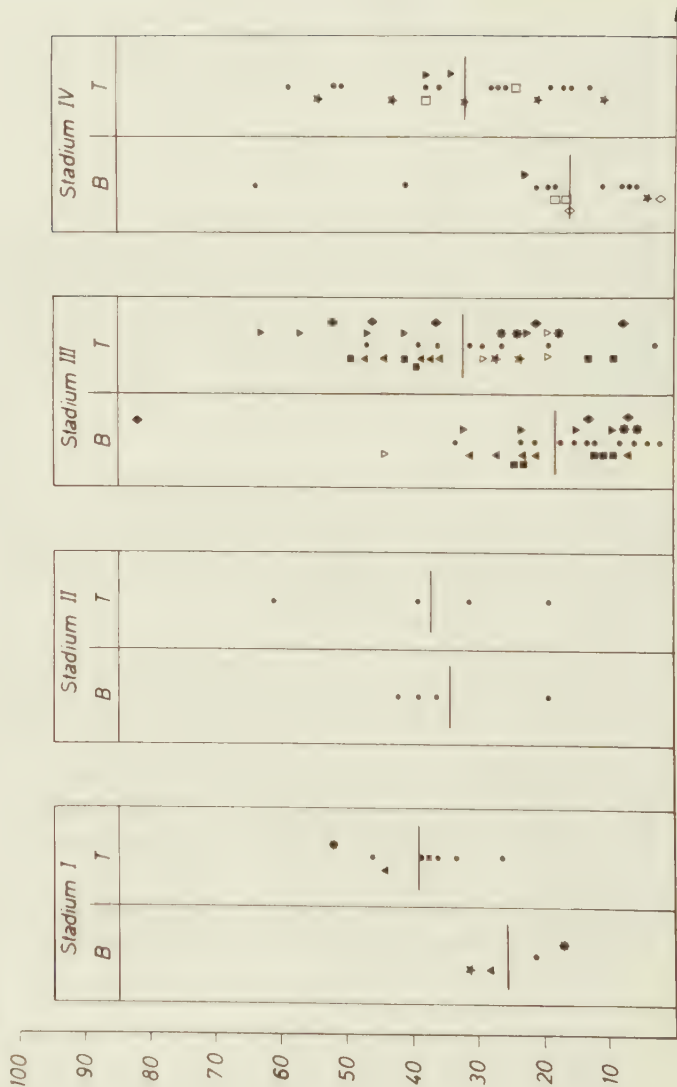


Abb. 3

Patient: G.A. o 14 J. - Verhalten der B- u. T-Lymphozyten im Krankheitsverlauf

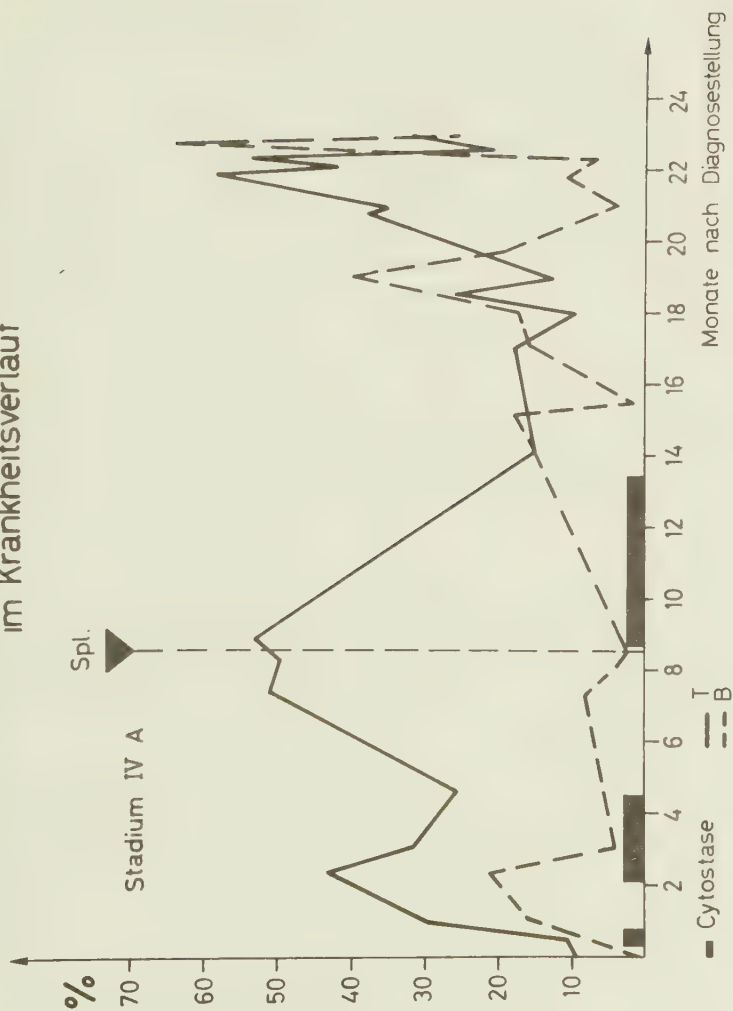


Abb. 4

ziehung zwischen alkalischer Leukozytenphosphatase und Krankheitsverlauf. Auch von Schumacher (51) wurde der alkalischen Leukozytenphosphatase eine größere Bedeutung zugemessen, jedoch mehr im Hinblick auf die Differentialdiagnose und Prognose maligner Hämoblastosen.

Senkungsbeschleunigung, Eosinophilie und Lymphopenie, sowie γ -Globulin-Erhöhung und periodisches Fieber sind Zeichen für einen entzündlichen Krankheitstyp beim M. Hodgkin. (48) Wiseman (47) zeigte bereits 1936 an einer Reihe von Fällen, die vor der Anwendung intensiver Radio- und Chemo-Therapie gesammelt wurden, eine Verminderung des Lymphozytengesamt-betrages bei 87 % der Patienten.

Die Lymphopenie ist, wie bereits erwähnt wurde, charakteristisch für fortgeschrittene Krankheitsstadien, resultiert aber zusätzlich auch aus den Therapiemaßnahmen. (11,20) Erhöhungen eosinophiler Blutzellzahlen werden seit der Zeit erster klinischer Studien berichtet; ihre Bedeutung ist nicht gänzlich geklärt.

Gesteigerte Thrombozytenzahlen sind ebenfalls typisch für die Hodgkin'sche Krankheit. Erhöhtes Serumkupfer wird während der aktiven Phase beobachtet und ist verbunden mit erhöhten Serum-Haptoglobin- und Caeruloplasmin-Werten. (46) Kombiniert ist dieser erhöhte Kupferspiegel in 50 % mit erniedrigten Eisenwerten.

Einerseits sind die bisher erwähnten Parameter von wiederholt nachgewiesenem, praktischem Wert, andererseits unterliegen sie aber mannigfaltigen Einflüssen, und es ist oft unbekannt wie sie kausal durch die Krankheitsaktivität des M. Hodgkin beeinflusst werden.

Beispielsweise verändert bereits eine banale Virusinfektion BKS, Differentialblutbild und Serumkupfer.

Das ist besonders ungünstig, da ja bestrahlte Patienten infolge der sinkenden Leukozytenzahlen, sehr infektionsanfäll-

lig sind und häufig diesen Infekten unterliegen.

Dies sind nur einige Beispiele dafür, wie indirekt die Aussage dieser Verlaufsparameter für die Aktivitätsbeurteilung der Krankheit ist, wobei die Einflüsse der Therapiemaßnahmen (Bestrahlung, Cytoplastik, Splenektomie, Lymphknotenbiopsie) auf all diese Werte noch gar nicht berücksichtigt sind. Wie bereits erwähnt, bietet die Feststellung von Eisenberg (11), daß man durch bloßes Auszählen des Gesamtlymphozytenbetrages im peripheren Blut einen Langel an einer bestimmten Subpopulation nicht feststellen kann, den Ausgangspunkt zu dem hier dargestellten Versuch, mit Hilfe eines Nachweises verschiedener, definierter Subpopulationen zusätzliche Informationen zu gewinnen.

Dies schien besonders vielversprechend, daschon seit Jahren, bevor die einzelnen Lymphozytensubpopulationen unterschieden werden konnten, klinische und experimentelle Hinweise bekannt wurden, die darlegten, daß das Immunsystem unterschiedlich beim Morbus Hodgkin verändert ist.

So wurde durch verschiedene Untersucher (8,25,26) nachgewiesen, daß die zelluläre Immunität, d.h. Hautreaktion auf verschiedene Antigene, Lymphozytentransformationsteste, Hauttransplantation, mehr oder weniger defekt war; andererseits aber humorale Antikörperreaktionen relativ konstant blieben bis zu einem weit fortgeschrittenen Stadium. Und diese Störung der zellvermittelten Immunität beim Morbus Hodgkin wurde auch von Order und Hellman (7,13) dazu benützt, die noch ungeklärte Pathogenese dieser Erkrankung zu deuten.

So nahmen diese Autoren an, daß die Verminderung der zur Verfügung stehenden peripheren T-Lymphozyten dadurch entsteht, daß diese Lymphozytensubpopulation im Bereich des Tumorbefalles benötigt wird zur körpereigenen Abwehr der Reed-Sternberg-Zellen. Denn diese Zellen sollen nach der Ansicht dieser Autoren die eigentliche maligne Zellproliferation darstellen und die umgebende Lymphozytenpopulation,

die wahrscheinlich vorwiegend aus T-Lymphozyten besteht, ist nur die Abwehrreaktion des Organismus.

Aus allen diesen Vorbefunden und theoretischen Überlegungen wäre zu erwerben, daß die T-Zellsubpopulation im peripheren Blut beim Morbus Hodgkin vermindert ist. Erstaunlicherweise wurde dies bei unseren Patienten nicht gefunden.

Ganz ähnliche Resultate wurden auch von Bobrove et al. (19) erhoben, die bei 41 Patienten mit unbehandeltem Morbus Hodgkin eine T- und B-Zelldifferenzierung durchführten.

Somit ist ausgeschlossen, daß die physiologische Lymphozytenverteilung nicht nur artifiziell normale Werte hervorruft, bedingt durch die eingreifende Therapie (Bestrahlung und Cytostatika).

Dagegen scheint erstaunlicherweise im Stadium III und IV (s. Abb. 3) die B-Zellpopulation vermindert zu sein. Als Erklärungsversuch ist hier anzunehmen, daß die ausgedehnte Cyclophosphamidtherapie (300 mg/m^2 Endoxan 14-tägig in Abständen über 2 Jahre) für diese Zelldepletion verantwortlich ist, nachdem von Sen und Borella (53) darauf hingewiesen wurde, daß diese Lymphozytensubpopulation preferentiell durch Cyclophosphamid zerstört wird. Somit ist die Differenzierung der Lymphozyten in T- und B-Zellen, nachgewiesen durch eine Membranimmunfluoreszenztechnik und Rosettenbildung mit Schaffs-erythrozyten, nicht geeignet für eine Verlaufskontrolle von Morbus Hodgkin Patienten zur Aktivitätsbestimmung dieser Erkrankung. Ob eine Ausdehnung auf andere Zellmarker diese Untersuchung doch noch klinisch wertvoll machen kann, müssen erst zukünftige Untersuchungen beweisen.

Denkbar wäre insbesondere, daß der E-Rosettentest falsche normale Werte ergab, da die genaue Bindungsstruktur an der Lymphozytenoberfläche noch unbekannt ist und eine Inhibition durch verschiedene Serumfaktoren, wie sie bereits beschrieben wurden (52), möglich erscheint.

In diese Richtung weisen auch die Untersuchungen von Miuti und Wigzell (54), die im Unterschied zu uns einen verminderten Prozentsatz an T-Zellen im Blut von 7 Patienten mit Hodgkin'scher Erkrankung fanden, unter Benützung eines Anti-T-Lymphozytenserums in einer komplementabhängigen Cytotoxizitäts-Reaktion.

In der näheren Zukunft können aber somit die bereits seit vielen Jahren eingeführten blutchemischen Verlaufsparemeter durch diese neueren immunologischen Untersuchungen nicht ersetzt werden.

9. Zusammenfassung

In einem Zeitraum von 36 Monaten wurde das Blut von 13 Kindern mit Lymphogranulomatose wiederholt auf zwei Lymphozyten-subpopulationen untersucht.

Es handelte sich um 9 Knaben im Alter von 5 - 17 Jahren, sowie um 4 Mädchen von 12 Jahren.

Es waren Patienten in allen 4 Krankheitsstadien betroffen, histologisch dominierte der Mischtyp.

Eine Differenzierung der Lymphozyten wurde vorgenommen mit Hilfe des Schafererythrozytentests zum Nachweis der T-Lymphozyten und des Membranimmunfluoreszenztests zum Nachweis von membrangebundenen Immunglobulinen (B-Lymphozyten). Es konnte, wider Erwarten, keine Abnahme der T-Lymphozyten beobachtet werden, dagegen verminderte sich der Prozentsatz der B-Lymphozyten im peripheren Blut mit fortschreitendem Krankheitsstadium.

Für eine Verlaufskontrolle zur Aktivitätsbestimmung der Erkrankung scheint derzeit diese neue immunologische Methode nicht geeignet zu sein.

10. Literaturverzeichnis

1. KENNEL, J.H., Gajl-Peczalska, K.J., Nesbit, M.E.: The lymphoid system: Abnormalities in immunodeficiency and malignancy.
J. Pediatr. 84: 789 (1974)
2. WARNER, L.L.: Membrane immunoglobulins and antigen receptors on B and T-lymphocytes.
Advanc. Immunol. Academic Press "New York" (1974)
3. SCHWENK, H.U.: Erste Bedeutung einer immunologischen Lymphoidzellendifferenzierung in der Pädiatrie.
Therapiewoche 25, 23, 3231, (1975)
4. HUBER, CH., Michlmayr, G., Huber, H.: Immunologische Marker in der Differentialdiagnose lymphatischer Systemerkrankungen.
Dtsch.med.Wschr. 99: 2262 (1974)
5. GAJL-PECZALSKA, K.J., Hansen, J.A., Bloomfield, C.D., Good, R.A.: B lymphocytes in untreated patients with leukemia and lymphoma and Hodgkin's disease.
J.Clin.Invest. 52: 3064 (1973)
6. MENDES, N.F., Musatti, C.C., Tolnai, M.E.A.: T and B lymphocyte membrane markers in cells from patients with leukemia and lymphoma.
Int.Arch.Allergy 46: 695 (1974)
7. ORDER, S.E., Hellman, S.: Pathogenesis of Hodgkin's disease.
Lancet 1: 571 (1972)
8. GOTOFF, S.I.: Acquired and transient immunodeficiency disorders in "IMMUNOLOGIC DISORDERS IN INFANTS AND CHILDREN" by E.R. STIEHL and V.A. FULGINITI, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1973
9. KAUR, J., Spiers, A.S.D., Catovsky, D., Galton, D.A.G.: Increase of T-lymphocytes in the spleen in Hodgkin's disease.
Lancet 1: 800 (1974)
10. DE VITA, V.A.: Lymphocyte reactivity in Hodgkin's disease:

A lymphocyte civil war.

N.Engl.J.Med. 289: 801 (1973)

11. AISENBERG, C.: Lymphocytopenia in Hodgkin's disease.
Blood 25: 1037 (1965)
12. WAGENER, D.J.Th., Geestman, E., Borgonjen, A.: T and B lymphocytes in spleens in Hodgkin's disease.
Lancet I: 1378 (1975)
13. HELLMAN, S.: Current studies in Hodgkin's disease (what laparatomy has brought)
N.Engl.J.Med. 290: 894 (1974)
14. BELPOLME, D., Joseph, R., Navares, L. Gerard-Marchand, R., Huchet, R., Botto, I., Grandjon, D., Mathé, G.: T-lymphocytes and Reed-Sternberg cells in spleen of Hodgkin's disease.
N.Engl.J.Med. 201: 1417 (1974)
15. SMITH, K., Johnson, D., Hustu, O., Pratt, Ch., Fleming, I., Holton, Ch.: Concurrent chemotherapy and radiation therapy in the treatment of childhood and adolescent Hodgkin's disease.
Cancer 33: 38 (1970)
16. COHNEN, B.: Klinisch diagnostische Bedeutung der Oberflächenmarker menschlicher T- und B-Lymphozyten.
Dtsch.med.Wschr. 99: 2302 (1974)
17. YOUNG, R.C., De Vita, V.T., Johnson, R.E.: Hodgkin's disease in childhood.
Blood 42: 2, 163 (1973)
18. MICHLIMAR, G., Huber, Ch., Fink, U., Falkensammer, M., Huber, H.: T-Lymphozyten in peripherem Blut und Lymphozyten bei lymphatischen Systemerkrankungen.
Schweiz.med.Wschr. 104: 815 (1974)
19. BOBROVE, A.M., Fuks, Z., Strober, S., Kaplan, H.S.: Quantitation of T and B lymphocytes and cellular immune function in Hodgkin's disease.
Cancer 36: 169 (1975)
20. ANGLESIO, E.: The Treatment of Hodgkin's Disease. Recent Results in Cancer Research, Bd. 18

- Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1969)
21. WAGENER, D.J.T., Greestman, E., Wessels, H.M.C.: The influence of splenectomy on the in vitro lymphocyte response to phytohaemagglutinin and pokeweed mitogen in Hodgkin's disease.
Cancer 36: 194 (1975)
22. BURNET, F.M.: Immunological surveillance
Pergamon Press, Sydney (1970)
23. GOOD, R.A.: Crucial experiments of nature that have guided analysis of the immunological apparatus, in
"IMM. DISORDERS IN INFANTS AND CHILDREN" by E.R. STIEHM AND V.A. FULGINITI, W.B. Saunders Company, Philadelphia (1973)
24. LAWTON, A.R., Cooper, M.D.: Development of immunity: Phylogeny and ontogeny in "IMM. DISORDERS IN INFANTS AND CHILDREN" by E.R. STIEHM AND V.A. FULGINITI, W.B. Saunders Company, Philadelphia (1973)
25. SINKOVICS, J.G., Chullenberger, C.C.: Hodgkin's Disease
Lancet 1: 506 (1975)
26. FAGUET, G.B.: Quantitation of immunocompetence in Hodgkin's disease.
J.Clin.Invest. 56: 951 (1975)
27. METCALF, D., Moore, M.A.S.: Hemopoetic cells: Their origin, migration and differentiation.
North Holland publikation, Amsterdam (1971)
28. WU, A.M., Till, J.E., Siminovitch, L., McCulloch, E.A.: Cytological evidence for a relationship between normal hematoietic colony-forming cells and cells of the lymphoid system.
J.Exp.Med. 127: 455 (1968)
29. FOISE, E.A., Old, L.J., Stockert, E.: An approach to the mapping of antigens on the cell surface.
Proc.Nat.Acad.Sci. 60: 886 (1968)

30. FORD, C.E.: Traffic of lymphoid cells in the body, in
"THE THYMUS" by Wolstenholme, G.E. and Porter,
R. Ciba Foundation Symposium Boston: Little,
Brown and Co. (1966)
31. GOWANS, J.L.: Immunobiology of the small lymphocyte,
in "IMMUNOBIOLOGY" by Good, R.A., Fisher, D.W.
Stamford, Conn.: Sinauer Associates (1971)
32. COOPER, M.D., Perey, D.Y., Gabrielsen, A.E., Sutherland,
D.E.R. McKneally, M.F., Good, R.A.: Production
of an antibody deficiency syndrome in rabbits
by neonatal removal of organized intestinal
lymphoid tissues.
Int.Arch.Allergy 33: 65 (1968 b)
33. BARNER, M.L.: The immunological role of the avian thymus
and bursa of fabricius.
Folia.Biol. (Prague) 13: 1 (1967)
34. ASPINALL, R.L., Meyer, R.K., Graetzer, M.A., Wolfe, M.R.:
Effect of thymectomy and bursectomy on the
survival of skinhomografts in chickens.
J. Immunol. 90: 872 (1963)
35. GOWANS, J.L., McGregor, D.D.: The immunological activities
of lymphocytes.
Progr.Allergy 9: 1 (1965)
36. GOOD, R.A., Finstead, J., Gatti, R.A.: Bulwarks in the
bodily defense, in "INFEKTIOUS AGENTS AND HOST
REACTIONS" by MULD, S., ed.Philadelphia, W.B.
Saunders Co. (1970)
37. MITCHISON, N.A.: Symp.Int.Soc.Cell.Biol. 7: 29 (1968)
38. KATZ, D.H., Paul, W.E., Goidl, E.A., Benacerraf, B.:
Radioresistance of cooperative function of
carrier specific lymphocytes in antihapten
antibody responses.
Science 170: 462 (1970)
39. BRUNNER, K.L., Serottini, J.C.: Cytotoxic lymphocytes as
effector cells of cell-mediated immunity, in

- "PROGRESS IN IMMUNOLOGY" by AMOS, B. ed.
Academic Press. Inc. p. 385, New York (1971)
40. MÖLLER, G.: Demonstration of mouse isoantigens at the cellular level by the fluorescent antibody technique.
J.Exp.Med. 114: 415 (1961)
41. RAFF, M.C., Sternberg, M., Taylor, R.B.: Immunoglobulin determinants on the surface of mouse lymphoid cells.
Nature (London) 225: 553 (1970)
42. DIETZEL, F., Grebe, S.F., Ristig, W., Schmidt, H.G., Steckenmesser, R.: Diagnostik des M. Hodgkin-Relidivs.
Med.Klin. 69: 289 (1974)
43. EASSON, E.C., Russel, M.H.: The cure of Hodgkin's disease.
Brit.med.J. 1: 1704 (1963 I)
44. KADIN, M.E., Newcom, S.R., Gold, S.B., Stites, J.P.: Origin of Hodgkin's cell.
Lancet 2: 167 (1974)
45. FLURY, R., Jegmann, T.: Das Verhalten der Leukozytenphosphatase beim M. Hodgkin.
Schweiz.med.Wschr. 94: 958 (1964)
46. FAGLIARDI, E., Giangrangi, E.: Clinical significance of the blood copper in Hodgkin's disease.
Acta haemat. 24: 201 (1960)
47. WISEMAN, R.K.: Blood picture in primary diseases of lymphatic system; their character and significance.
J.A.M.A. 107: 2016 (1936)
48. PETZOLDT, R., Hartwich, G.: Gehäuftes Auftreten von Lymphogranulomatose.
Med.Klin. 70: 62 (1975)
49. ABDOU, N.I., Abdou, N.C.: Bone marrow: The bursa equivalent in man?
Science 175: 446 (1972)
50. GRUNDELMANN, E., Fritzsche, R.: Zur Pathologie des behandelten Morbus Hodgkin.

Dtsch.med.Wschr. 99: 269 (1974)

51. SCHUMACHER, K.: Die Bedeutung der alkalischen Leukozytenphosphatase für die Differentialdiagnose und Prognose maligner Hämoblastosen.

Med.Welt 415 (1964)

52. CHISARI, F.V., Edgington, T.S.: Lymphocyte E rosette inhibitory factor

J.Exp.Med. 142: 1092 (1975)

53. SEN, L., Borella, L.: Expression of cell surface markers on T and B lymphocytes after long-term chemotherapy of acute leukemia.

Cell. Immunol. 9: 84 (1973)

54. MIUTI, F., Wigzell, H.: Function and distribution pattern of human T lymphocytes. II. Presence of T lymphocytes in normal humans and in humans with various immunodeficiency disorders.

Clin.Exp.Immunol. 13: 183 (1973)

L e b e n s l a u f

Ich wurde als Sohn des Buchhalters Wolfgang Barth und seiner Ehefrau Johanna, geb. Kunze, am 10.9.1951 in Neutraubling, bei Regensburg, geboren.

Hier besuchte ich von 1957 bis 1961 die Volksschule. Bis 1971 ging ich in das Goethe-Gymnasium Regensburg, an dem ich im selben Jahr das Abitur machte.

Das Medizin- und Zahnmedizinstudium begann ich im WS 1971/72 an der Universität Erlangen-Nürnberg.

Im SS 1972 bestand ich das Vorphysikum, im WS 1973/74 das Physikum.

Im Dezember 1976 legte ich mit Erfolg mein zahnmedizinisches Staatsexamen ab.

Copy - Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197